

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1935

THÈSE

N° 306

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

(Diplôme d'État)

PAR

Alexandre CORNESCO

Né le 2 Octobre 1908, à Bucarest (Roumanie)

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE
DU COMPORTEMENT DES PLAQUETTES
DANS LE SANG CONSERVÉ

Travail du Laboratoire de la Transfusion sanguine d'urgence
de l'Hôpital Broca

Président : M. GOSSET, Professeur

PARIS

LIBRAIRIE E. LE FRANÇOIS

91, BOULEVARD ST-GERMAIN, 91

1935

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1935

THÈSE

N°

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

(Diplôme d'État)

PAR

Alexandre CORNESCO

Né le 2 Octobre 1908, à Bucarest (Roumanie)

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE
DU COMPORTEMENT DES PLAQUETTES
DANS LE SANG CONSERVÉ

Travail du Laboratoire de la Transfusion sanguine d'urgence
de l'Hôpital Broca

Président : M. GOSSET, Professeur

PARIS
LIBRAIRIE E. LE FRANÇOIS
91, BOULEVARD ST GERMAIN, 91

1935

I. — PROFESSEURS

	MM.
Anatomie	ROUVIÈRE.
Physiologie	Léon BINET.
Physique médicale	STROHL.
Chimie médicale	DESGREZ.
Bactériologie	Robert DEBRÉ.
Parasitologie et histoire naturelle médicale	BRUMPT.
Pathologie médicale et générale	BAUDOUIN.
Pathologie chirurgicale	CHEVASSU.
Anatomie pathologique	ROUSSY.
Histologie	CHAMPY.
Pharmacologie et matière médicale	TIFFENEAU.
Thérapeutique	N...
Hygiène et médecine préventive	TANON.
Médecine légale	BALTHAZARD.
Histoire de la médecine et de la chirurgie	LAIGNEL-LAVASTINE
Pathologie expérimentale et comparée	FIESSINGER.
Hydrologie thérapeutique et climatologie	Maurice VILLARET.
Clinique médicale	LOEPER.
	CARNOT.
	CLERC.
	Marcel LABBÉ.
Hygiène et clinique de la première enfance	LEREBoullet.
Clinique des maladies des enfants	NOBÉCOURT.
Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale	H. CLAUDE.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	GOUGEROT.
Clinique des maladies du système nerveux	GUILLAIN.
Clinique des maladies infectieuses	LEMIERRE.
	CUNÉO.
Clinique chirurgicale	GOSSET.
	GRÉGOIRE.
	LENORMANT.
Clinique ophtalmologique	TERRIEN.
Clinique urologique	MARION.
	BRINDEAU.
Clinique d'accouchements	COUVELAIRE.
	JEANNIN.
Clinique gynécologique	PROUST.
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	OMBRÉDANNE.
Clinique thérapeutique médicale	RATHERY.
Clinique oro-rhino-laryngologique	LEMAITRE.
Clinique thérapeutique chirurgicale	Pierre DUVAL.
Clinique propédeutique	SERGENT.
Clinique de la Tuberculose	BEZANÇON.
Clinique chirurgicale orthopédique de l'adulte	MATHIEU.
	HOVELACQUE.
	MULON.
Professeurs sans chaire	OLIVIER.
	VERNE.
	MOCQUOT.

II. — AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM.

BÉNARD (Henri) . Pathologie médicale.
 BERNARD Étienne. Pathologie médicale.
 BOULIN Pathologie médicale.
 BULLIARD..... Histologie.
 CATHALA Pathologie médicale.
 CHEVALLIER Pathologie médicale.
 DOGNON..... Physique.
 FEY Urologie.
 GALLIARD..... Parasitologie.
 GASTINEL..... Bactériologie.
 DE GAUDART D'ALLAINES. Pathologie
 chirurgicale.
 GAYET Physiologie.
 GIROUD..... Histologie.
 HAGUENAU Pathologie médicale.
 HALPHEN..... Oto-rhino-laryngologie.
 HAZARD Pharmacologie.
 HUGUENIN Anatomie pathologique.
 JOANNON Hygiène.
 LABBÉ (Henri) ... Chimie biologique.
 LACOMME Obstétrique.

MM.

LANTUÉJOU ... Obstétrique.
 LAROCHE (Guy) . Pathologie médicale.
 LEMAIRE Pathologie expérimentale
 LEVEUF Pathologie chirurgicale.
 M^{lle} J. LÉVY..... Pharmacologie.
 LÉVY-VALENSI .. Neurologie et Psychiatrie*
 MOREAU Pathologie médicale.
 MOULONGUET... Pathologie chirurgicale.
 MOUQUIN Pathologie médicale.
 OBERLING..... Anatomie pathologique.
 PETIT-DUTAILLIS Pathologie chirurgicale.
 PIÉDELIÈVRE... Médecine légale.
 PORTES Obstétrique.
 RICHEL Physiologie.
 SANNIÉ..... Chimie biologique.
 SÉNÈQUE..... Pathologie chirurgicale.
 TROISIER Pathologie expérimentale.
 TURPIN Pathologie médicale.
 VIGNES Obstétrique.
 WILMOTH Pathologie chirurgicale.

III. — AGRÉGÉS RAPPELÉS A L'EXERCICE

pour le service des examens

MM.

ALGLAVE Pathologie chirurgicale.
 BUSQUET Pharmacologie.
 CHAILLEY-BERT. Physiologie.

MM.

LEROUX..... Anatomie pathologique.
 NEVEU-LEMAIRE Parasitologie.
 ZIMMERN..... Physique.

IV. — AGRÉGÉS CHARGÉS DE COURS DE CLINIQUE ANNEXE

à titre permanent.

MM.		MM.	
ABRAMI	} Clinique médicale.	BASSET	} Clinique chirurgicale.
ALAJOUANINE ..		BROCQ.....	
AUBERTIN		CADENAT.....	
BRULÉ		GATELLIER	
CHABROL.....		HEITZ-BOYER ..	
CHIRAY		MOURE	
DONZELOT.....		QUENU.....	
DUVOIR.....		SCHWARTZ.....	
HARVIER.....		VELTER.....	
LIAN			
PASTEUR - VADLERY - RADOT.....			
SÉZARY			
MM.			
ECALLE	} Clinique obstétricale.		
GUÉNIOT			
LE LORIER.....			
LÉVY-SOLAL			
METZGER			

V. — CHARGÉS DE COURS

MM.	
CHAILLEY-BERT, agrégé	Education physique.
LEDoux-LEBARD	Radiologie clinique.
WEIL-HALLÉ.....	Puériculture.
FREY.....	Stomatologie.

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A MA TRÈS CHÈRE MÈRE

*Modeste témoignage
de profonde affection
et d'infinie reconnais-
sance.*



Digitized by the Internet Archive
in 2026

A MONSIEUR LE DOCTEUR TZANK

Chevalier de la Légion d'Honneur
Médecin de l'hôpital Broca

*Qui m'a inspiré le
sujet de cette thèse et m'a
aidé de ses précieux
conseils au cours de sa
réalisation.*

A MES MAITRES DANS LES HOPITAUX

A MONSIEUR ANDRÉ DREYFUS

Interne des Hôpitaux de Paris

*Qui m'a tant aidé
à accomplir ce travail.*

A MONSIEUR ROGER MOLINE

Interne des Hôpitaux de Paris

*Qu'il accepte ici
ma reconnaissance
émue et ma plus
vive affection.*

GÉNÉRALITÉS ET HISTORIQUE

L'Étude de la conservation du sang se rapporte exclusivement à la conservation du sang stabilisé. Le procédé de stabilisation le plus employé et le plus ancien est celui obtenu par addition de citrate de soude.

Hustin, en 1914, a montré le premier l'intérêt de l'emploi du sang ainsi stabilisé en vue de la transfusion. En France, cette méthode a été employée puis vulgarisée par Hédon, Jeanbrau et P. E. Weill, qui en ont montré les possibilités physiologiques et cliniques. Hédon et Jeanbrau ont eu dès le début l'idée d'étudier les propriétés cliniques du sang stabilisé, puis conservé. Mais le sang conservé n'est véritablement entré dans le domaine de l'utilisation pratique qu'après les travaux de Judine de Moscou, qui utilisait du sang provenant de cadavres, stabilisé par le citrate de soude à 4 %, conservé à la glacière et réchauffé au moment de l'emploi. Cet auteur, à l'occasion de son expérimentation sur la conservation du sang, avait vérifié à nouveau la conservation morphologique des hématies et la valeur fonctionnelle

de l'hémoglobine. Tout récemment à Bordeaux Jeanneney et Vieroz ont repris après une subgestion ancienne de Jean Dalsace l'étude et l'emploi de sang conservé provenant de donneurs bénévoles ou indemnisés.

C'est, transposer dans les conditions de la vie française la reprise des expériences de Judine à Moscou.

Il nous a semblé que la technique de Jeanneney et Vieroz permettait d'avoir dès l'origine du sang moins altéré et par conséquent semble-t-il plus facile à conserver.

Il semble évident en effet, que cette méthode de transfusion de sang conservé, présente en pratique un très gros intérêt. La transfusion y acquiert une facilité comparable à l'injection de sérum artificiel.

On se passe de la présence de donneurs, parfois difficile à recruter, qu'en aucun cas on ne saurait à avoir à sa disposition à tout moment et en particulier lorsqu'il s'agit de transfusions importantes, il est plus facile d'avoir à utiliser plusieurs ampoules successivement qu'à s'adresser à différents donneurs, qu'il est peut-être difficile de grouper instantanément.

Enfin, étant donné qu'on a le sang à sa disposition, il est très facile d'en faire une étude biologique approfondie avant de l'employer.

En particulier, on peut pratiquer sur le sang même qu'on désire utiliser, une réaction de Wassermann, ce qu'on ne saurait évidemment faire au moment même de la transfusion sur un donneur. L'intérêt

de la méthode est donc tel, qu'il nécessite qu'on l'étudie avec la plus grande attention. Il faut, en effet, que les nombreux avantages que nous venons d'énumérer ne soient pas compromis par une altération de ce sang conservé.

A quelle méthode convient-il de s'adresser pour faire cette étude ?

Les arguments cliniques semblent à priori être ceux sur lesquels on doit se baser. En effet, si les transfusions de sang conservé sont suivies d'un heureux effet, qu'on remonte avec elles un malade frappé d'une hémorragie grave, qu'on puisse faire cesser un épisode hémorragique, on en pourrait conclure, semble-t-il, à l'excellence du procédé. En fait, il n'en est rien. L'analyse détaillée montre qu'il existe, entre des cas cliniques en apparence superposables, d'étonnantes différences et l'expérimentation parvient à réaliser en ce qui concerne seulement le cas le plus simple, l'hémorragie massive, les tableaux qui semblent absolument paradoxaux.

MM. Gosset et Tzank ont étudié les hémorragies provoquées chez le lapin et ont observé des faits extrêmement différents. Si on pratique une saignée massive par la carotide, en quelques secondes l'animal tombe dans un état syncopal et présente même déjà des soubressauts agoniques. Il suffit alors pour le ramener à la vie de lui injecter dans les veines ou les artères une très faible quantité, quelques centimètres cubes, d'un sérum artificiel quelconque.

Si au contraire sur un autre animal, on pratique

chaque jour une spoliation sanguine minime, qu'on a soin de remplacer par une quantité équivalente de sérum artificiel et qu'au bout d'une semaine environ, on tente une saignée de l'animal par la carotide et de le ramener à la vie comme dans le premier cas par une injection de sérum artificiel, cette tentative restera vaine et l'animal mourra, à moins qu'on ne lui fasse une transfusion de sang pur.

Or la clinique réalise l'un et l'autre cas et c'est pour n'avoir en vue que les cas rentrant dans le premier ordre de faits que nous avons exposés, savoir : hémorragie massive survenant chez un individu intact auparavant, qu'on a pu préconiser et mettre en balance avec le sang, les liquides les plus divers (sérum gommé de Bayliss, sérum polycitraté de Normet) tous liquides qui seraient parfaitement incapables de sauver un malade profondément touché par de petites hémorragies précédant celles à peine plus grandes, en faveur desquelles on met en œuvre l'arsenal thérapeutique.

C'est pourquoi, nous refusant à tenir compte de faits cliniques dont la physiologie est souvent mal analysée, quand elle l'est, nous avons préféré étudier les comportements des éléments figurés du sang et les suivre d'heure en heure au double point de vue, qualitatif et quantitatif.

Certes, le travail que nous avons fait au laboratoire de la transfusion sanguine d'urgence est incomplet. Il y aurait lieu non seulement de reprendre les remarquables travaux des Russes sur la chimie

du sang conservé, mais encore d'étudier au point de vue physiologique ces éléments, que nous avons seulement considéré dans leur forme et dans leur nombre.

Toutefois il nous est apparu dès à présent qu'il y avait dans les premiers résultats que nous avons obtenus une telle éloquence, qu'elle se passe presque du complément expérimental que réclame la logique d'une étude complète.

Comment avons-nous étudié ce sang ?

C'est ce que les chapitres suivants diront en détail.

Indiquons dès à présent que nous avons pris pour critère le comportement du globulin, que le sang conservé a été prélevé et mis en réserve selon les procédés indiqués par les auteurs russes, qui semblent posséder sur cette question une vaste expérience qui nous fait encore défaut.

C'est Donné qui, en 1846, aperçut pour la première fois cet élément figuré du sang, qu'il baptisa du nom de globulin, terme meilleur comme le remarque Aynaud, que celui de hémato-blaste (Hayem) qui préjuge d'une fonction génératrice aujourd'hui controuvée et que celui de plaquette (Bizzozero) qui a été employé pour d'autres éléments. Ce troisième élément figuré du sang, en raison de son altérabilité, a été longtemps contesté dans son existence même. Mais il a été prouvé physiologiquement et expérimentalement que non seulement il existe, mais que c'est un élément constant du sang qui vit et meurt et qui prend part à la constitution

du sang au même titre que le globule rouge et le leucocyte.

En effet, les travaux de Achard et Aynaud (1907, 1908, 1909) ont établi que le globulin :

a) A une grande altérabilité morphologique sous l'influence du vieillissement en dehors de l'organisme, des températures s'écartant suffisamment de celle du corps, des poisons protoplasmiques même très dilués.

b) Qu'il a une motilité propre, nette, surtout à une température voisine de 38°-40° C., motilité qui disparaît sur les globulins refroidis ou au contraire chauffés au-dessus de 42° C.

c) Qu'ils réduisent le bleu de méthylène au même titre que toute cellule vivante qui décolore le bleu de méthylène en le transformant, par réduction, en un leucodérivé.

d) Enfin le fait qu'on a réussi à obtenir une coloration « vitale » par le rouge neutre et l'impossibilité de colorer à l'aide de ce produit des globulins altérés, suffit comme les faits que nous venons d'énumérer pour rendre évidente la vitalité des globulins.

De plus, on sait que certains antiseptiques : chloroforme, fluorure sodique, n'entravent que très faiblement ou pas les fermentations diastasiques, alors qu'ils suppriment définitivement ou arrêtent les fermentations vitales (Lambling 1921).

Or les globulins sont extrêmement altérables sous l'action de ces agents et c'est un argument de plus en faveur de leur vitalité.

Chimiquement les globulins présentent les réactions des matières protéiques (xantoprotéine, biuret) ; les réactions de la nucléine.

Leurs cendres contiennent du Phosphore, Fer, Soufre et Calcium.

Ils contiennent une catalase.

CHAPITRE PREMIER

PHYSIOLOGIE DU GLOBULIN

Aynaud, dans son admirable thèse le « Globulin des Mammifères » disait en 1909 : « Je crois, quant à moi que nous ignorons tout de la physiologie du globulin. »

Pareille assertion, nous paraît aujourd'hui trop catégorique, car s'il y a encore des points obscurs sur la fonction particulière des globulins, il est par contre incontestablement établi que les globulins participent à de nombreux phénomènes *biologiques* tels que :

Hémostase spontanée, coagulation sanguine, rétraction du caillot, choc anaphylactique, fonction antixénique de l'organisme.

Rôle des globulins dans la coagulation sanguine

En effet, en nous limitant aux faits importants strictement en rapport avec notre sujet, il est établi que hystologiquement, dans le sang extrait des

vaisseaux et au moment où apparaît le réticulum fibrineux, les globulins : prennent un aspect tantôt globuleux, tantôt polyédrique, tantôt irrégulier, qu'ils émettent des bourgeons courts et trapus ou de fins prolongements et qu'ils se fusionnent en masses granuleuses.

Au moment où se forment les premiers filaments de fibrine, c'est de ces agglutinats qu'ils se détachent (Hayem).

Ces faits ont été mis en doute par Achard et Aynaud qui ne voient pas dans ces phénomènes un lien de cause à effet. Du point de vue expérimental, on est plus catégorique en disant que la précocité et la rapidité de la coagulation d'un plasma, la richesse en thrombine, du sérum en résultant sont, dans les conditions normales, fonction de la teneur de ce plasma en globulins.

Et nous n'allons pas si loin, pour affirmer avec Cramer et Pringle (1913) que lors de la coagulation, les globulins libèrent un principe filtrable, une lyse, qui serait indispensable à la transformation du fibrinogène en fibrine.

Globulins et circulation sanguine

Nous serons brefs sur ce chapitre qui n'est que trop peu lié aux recherches que nous avons entreprises. Il est établi qu'il y a un certain rapport entre la pression artérielle et le nombre des globulins

du sang circulant, de même que Laewen, Trendelenburg et Meyer ont établi expérimentalement l'existence dans le sérum de nombreux animaux, dont le lapin, et les extraits plaquetiques correspondants, aqueux et alcooliques, de propriétés constrictives nettes sur les vaisseaux sanguins musculocutanés de la grenouille, sur les lambeaux artériels isolés et sur la rate.

Globulins et immunité humorale

Les recherches de Hayem (1882-1883) ont établi que le nombre des globulins dans le sang subit, au cours des maladies infectieuses aiguës, des fluctuations bien déterminées : abaissé pendant la période fébrile, il s'élève au moment de la crise, atteint en 2 ou 3 jours une valeur maximum, parfois 3 à 4 fois plus grande que la valeur physiologique, puis fléchit de nouveau pour revenir à la normale vers le 7^e ou 8^e jour. Cette « plaquettose » de la convalescence est la « Crise hémotoblastique » de Hayem. D'autres auteurs ensuite, ont conclu que les globulins jouent, comme les leucocytes, un rôle déterminé dans la lutte de l'organisme contre les agents pathogènes infectieux : leur lyse massive au cours de la période fébrile des maladies infectieuses, met en liberté dans le plasma sanguin, les substances protectrices dont ils seraient chargés. Ces faits ont été contesté par Roskam. De même un fait acquis expérimentalement

c'est l'action microbicide des globulins vis-à-vis de la Bactéridie charbonneuse et les espèces microbiennes voisines : *Bacillus mycoïdes*, *Bacillus subtilis*, etc.

Globulins et rétraction des caillots fibrineux

Il est classique à l'heure actuelle, de considérer la rétraction du coagulum fibrineux comme étant nécessairement liée à la présence dans le sang originel et en nombre suffisant, de globulins non ou à peine altérés. En effet, ce fut Hayem qui le premier (1882) en collaboration avec Barrier, a établi ces faits sur le sang de cheval. Il a fait sédimenter à la température de la glace fondante, les éléments figurés du sang contenu dans une jugulaire de cheval. De cette façon, il obtient des échantillons de plasma plus ou moins riches en plaquettes sanguines : les ayant porté à la température du laboratoire et en ayant ainsi provoqué la coagulation, il observa que la rétraction des caillots issus de ces échantillons est directement proportionnelle à leur teneur en globulins. Ces auteurs, apportèrent une démonstration plus élégante encore de l'importance du rôle joué par les plaquettes dans la synérèse du caillot : filtrant à 0° C. un échantillon de plasma riche en globulins, pauvre en leucocytes et en hématies, ils recueillent un plasma très limpide, quasi privé d'éléments figurés. Réchauffé, ce plasma donne naissance

à un coagulum dépourvu de toute rétractilité, alors que le caillot provenant du plasma non-filtré, subissant une synérèse marquée, abandonnait une quantité relativement considérable de sérum. Et Hayem conclut :

« La rétractilité appartient donc, non aux éléments fibrineux, mais aux hémato blastes (globulins) ».

De même il attira l'attention sur l'association constante d'une thrombopénie marquée et d'un défaut de rétractilité du caillot au cours de divers états pathologiques (purpura hémorragique, anémie pernicieuse progressive, certains états cachectiques très avancés).

De nombreux auteurs ont confirmé les recherches de Hayem, entre autres citons les très belles recherches de Le Sourd et Pagniez qui ont établi sur du plasma oxalaté, dont on provoque la coagulation par addition de chlorure de calcium, que le caillot se rétracte proportionnellement à la quantité de plaquettes ajoutées avant la recalcification.

De même, fait très important, dans le sang conservé, le vieillissement de ce sang en dehors de l'organisme, modifie les plaquettes en ce qui concerne leur action sur la synérèse, de la même manière que le chauffage : il diminue, puis abolit leur pouvoir rétractile (Le Sourd et Pagniez 1907, Arthus et Chapiro 1908). Et ces auteurs de conclure, à la suite de nombreuses expériences, que la synérèse du caillot sanguin est fonction non seulement de la présence de plaquettes, mais encore faut-il que ces

dernières soient intactes, ou du moins peu modifiées, douées d'une « activité vitale ». Ces faits nous ont parus capitaux au point de vue des modifications biologiques du sang conservé, en ce qui concerne la rétraction des caillots fibrineux, en vue d'une transfusion de ce sang lors d'une maladie hémorragique.

Ces faits ont été contestés par les auteurs américains (Howell) et par Roskam.

Rôle des plaquettes dans l'hémostase spontanée

Les auteurs classiques ont fait jouer un rôle prépondérant aux plaquettes dans l'acte de l'hémostase spontanée des plaies des capillaires, artérioles et veinules.

Ils ont apporté en faveur de leur thèse des arguments :

A) *Anatomo-pathologiques.*

En effet, étudiant au microscope le caillot lymphatique ou thrombus blanc qui se forme lors de l'hémostase spontanée, ils ont constaté que ce dernier était formé principalement de plaquettes agglutinées les unes aux autres, emprisonnant dans leur magma d'assez rares hématies et leucocytes.

Et certains auteurs considéraient déjà à cette époque (Hanau 1886, Weigert 1887, Salhi 1894) que la formation du thrombus blanc s'accompagne

toujours et nécessairement de coagulation sanguine : pour eux la fibrine fait partie intégrante du thrombus.

B) *Cliniques.*

On sait que le sang des malades atteints de purpura hémorragique (Maladie de Werlhof, thrombopénie essentielle de Frank ou hémogénie de P. E. Weill ; autres syndromes hémogéniques) a un temps de coagulation normal, un temps de saignement qui serait toujours allongé et que ces malades présentent des hémorragies profuses, incoercibles, pouvant littéralement les saigner à blanc. En même temps il existe une thrombopénie marquée, d'où nombre d'auteurs ont établi un parallélisme étroit entre la tendance aux saignements incoercibles et la rareté des plaquettes, certains même ont affirmé que le purpura est une maladie des plaquettes (Denys et Frank).

C) *Arguments expérimentaux.*

Duke, en 1912, réalisa chez le lapin un purpura hémorragique en injectant de la toxine diphtérique et constata en même temps un nombre de plaquettes entre 4.000 et 8.000. D'autres, en injectant un sérum anti-plaquette obtinrent un état hémorragipare intense avec toujours une thrombopénie très marquée. Tous ces travaux ont été repris, pour être contestés par Roskam (1921) qui à la suite de

nombreuses expérimentations sur l'animal (chien), arrive à des conclusions tout à fait opposées, en travaillant sur un sang de coagulabilité normale.

Mais, fait capital, sur le sang rendu incoagulable il attribue aux plaquettes un rôle prépondérant dans l'hémostase spontanée. En effet Roskam dit : « Il est certain que la coagulabilité sanguine étant normale, les globulins ne jouent pas, dans l'hémostase des plaies des capillaires, artérioles et veinules, un rôle essentiel ni même prépondérant : si le sang se coagule dans les délais habituels, des temps de saignement normaux peuvent coïncider avec des thrombopénies extrêmement intenses, des temps de saignement très prolongés avec la présence, en nombre normal, de plaquettes dans le torrent circulatoire.

Par contre, le rôle des globulins deviendrait primordial, chez l'animal tout au moins, lorsqu'il existe une diminution de la coagulabilité sanguine. » Les recherches de Roskam ont été confirmées par la suite par de nombreux auteurs, entre autres en France, P. E. Weill (1922), pour prouver l'importance des altérations biologiques quant au phénomène de l'hémostase spontanée.

CHAPITRE 2

TECHNIQUE D'INVESTIGATION

Dans ce chapitre, nous étudierons successivement
1° La technique d'énumération des plaquettes en clinique.

2° La technique de prélèvement et de conservation du sang.

3° La technique de numération et d'étude des plaquettes du sang conservé.

Technique d'énumération des plaquettes en clinique

Les techniques d'énumération des plaquettes reposent toutes sur un même principe : le sang dès sa sortie des vaisseaux, doit être avant tout autre contact mélangé avec un liquide dit, liquide séparateur, destiné à empêcher l'agglutination des plaquettes entre elles. Ce liquide peut être soit une solution de citrate de soude, soit une solution de sulfate de magnésie.

Indépendamment de ces différences de liquide on peut distinguer les méthodes d'énumération en deux groupes essentiels :

1^o Celles qui prélèvent le sang au bout du doigt.

2^o Celles qui le recueillent directement dans la veine.

Parmi les premières, trois sont d'un usage courant.

a) Méthode Mouzon et Pagniez qui font une incision latéralement à l'ongle, plongent le doigt dans du liquide de Marcano jusqu'à coloration rose du liquide, brassent à la pipette et font une numération dans une cellule Malassez en employant un certain nombre de rectangles.

Ils établissent un rapport $\frac{\text{hématies}}{\text{hématoblastes}}$ d'où ils déduisent le nombre des hématoblastes connaissant celui des hématies.

b) Une méthode plus précise semble être celle de Kocher-Fonio, qui placent sur la pulpe du doigt une goutte de la solution à 14 % de sulfate de magnésie et piquent la pulpe du doigt à travers ce liquide. Ils prélèvent alors à la pipette une partie de la goutte qu'ils ont soigneusement homogénéisé avec une baguette de verre.

c) La troisième méthode qui semble la plus précise est celle qui a été préconisée récemment par Blacher (Le sang n^o 2, 1935) qui utilise une solution à 1,1 % de citrate de soude dans l'eau physiologique. Il rince la pipette ou le mélangeur avec la solution de citrate de soude, aspire la solution jusqu'à la division 1.

d'une pipette de 1 millimètre de diamètre graduée en 10 divisions, et fait écouler le contenu sur une lame de verre. Ensuite il aspire dans la division 2 de la pipette le sang jaillissant spontanément de la pulpe du doigt préalablement lavée et l'introduit dans une goutte de citrate de sodium, tout en prenant garde de ne pas exposer le sang au contact de l'air qui détruit les plaquettes. Il mélange intimement ce sang avec le liquide suscité, fixe les préparations avec de l'alcool et les colore au May-Grünwald-Giemsa.

Aucune de ces méthodes n'échappe à l'objection très grave formulée par Aynaud (1908), de mettre en contact les plaquettes et les lèvres de la plaie et ainsi de diminuer le nombre des premières d'une façon inappréciable. Aussi bien convient-il de s'adresser aux méthodes qui recueillent directement le sang dans la veine. La méthode originale de Aynaud consiste à utiliser une seringue de verre de 5 cc. qu'on remplit de sérum citraté   4 %, ponctionner la veine, recueillir quelques gouttes de sang qui sont mélangées soigneusement avec le liquide séparateur. On étudie ensuite directement le comportement des plaquettes. Pour les compter on peut utiliser la méthode de Thomsen, qui consiste à aspirer avec une pipette de Potain le sang faisant saillie par le pavillon de l'aiguille qu'on a détaché de la seringue. On préfère actuellement employer la méthode de Aynaud modifiée par Degkwitz et qui consiste à ponctionner la veine avec une seringue et une aiguille

soigneusement paraffinées, puis à faire tomber une ou deux gouttes du sang ainsi recueilli dans un tube paraffiné contenant deux cc. de sérum citraté à 10 %. Puis à fixer les éléments du sang en ajoutant deux cc. de sérum formolé à 4 %. Ensuite on peut étudier les plaquettes, soit directement après coloration par un cristal au Bleu de Crésyl, en recueillant une goutte de liquide qu'on place sur la cellule de Mallassez, soit à centrifuger, à étaler le culot sur une lame et à colorer par le Romanovski.

Ce dernier procédé est excellent, toutefois il présente quelques légers inconvénients : absence de rapport fixe entre la quantité de sang et la quantité de liquide conservateur, difficulté de l'étude morphologique des plaquettes, quelque soit la méthode à laquelle on s'adresse, imprécision de la numération puisqu'on rapporte le nombre des plaquettes à celui des hématies dont on compte 1000 tout au plus, c'est-à-dire dans la règle le $1/4000^e$ de mm^3 .

Nous employons un procédé un peu différent qui nous semble échapper à toutes ces critiques, procédé que M. André Dreyfus a communiqué à la Société d'Hématologie (Séance du 5 avril 1935.)

Une seringue de Barthélémy soigneusement rincée avec du sérum I. H. T. stérile, est remplie jusqu'à la division 5 avec ce sérum.

Ponction de la veine, remplissage de la seringue jusqu'à la division 10. L'aiguille et la seringue sont alors retirées de la veine et on aspire légèrement pour introduire dans la seringue le sang encore contenu

dans l'aiguille. Mélange soigneux des deux liquides dont on verse une grosse goutte sur une lame parfaitement propre.

Cette goutte sera aspirée dans des pipettes de Potain pour faire l'énumération des hématies et des leucocytes. D'autres petites gouttes seront versées sur d'autres lames, étalées par les procédés classiques, séchées rapidement et colorées au May-Grünwald Giemsa. Elles seront utilisées pour l'étude morphologique des hématies et des leucocytes, par l'établissement de la formule leucocytaire et enfin, ceci nous intéresse surtout, pour l'étude morphologique et quantitative des plaquettes.

1^o *Numération.* — Pour compter les plaquettes on les rapporte aux globules blancs.

L'établissement de ce rapport est rendu possible par le fait que dans le sang stabilisé les leucocytes se répartissent d'une façon uniforme, au lieu de se grouper sur les bords de la préparation, comme dans le sang pur. Elles présentent l'avantage d'une plus grande précision. En effet, si on compte le nombre de plaquettes correspondant à 10 globules blancs, c'est environ la $1/600^{\text{e}}$ partie de 1 mm^3 qu'on explore, alors qu'en étudiant 1000 hématies on n'en explore que la $1/4000^{\text{e}}$ partie.

2^o *Etude morphologique.* — Sur les préparations colorées on pourra en même temps étudier la formule morphologique des plaquettes, selon le schéma établi par Blacher.

Technique de prélèvement et de conservation du sang

Nous avons utilisé pour le prélèvement et la conservation du sang, le procédé employé à l'Institut d'Hématologie et Transfusion sanguine de Moscou, procédé fort ingénieux qui est décrit dans le mémoire de Balachawski et Guinsbourg.

1^o Liquide sérum conservateur I. H. T.

2^o Ringer, hépariné à 1/4000.

L'héparine est un nucléo-protéide hépatique. En effet, on prélève le sang dans les conditions d'asepsie parfaite, sang qui arrive dans un appareil spécial. Cet appareil est constitué par : un ballon de verre pyrex, verre neutre, de 1 litre de volume qui comporte un bouchon de caoutchouc percé par deux tubes en verre. A l'un des tubes on adapte un tube en caoutchouc avec une aiguille qui plonge dans un ballon contenant de l'huile de paraffine. A l'autre tube on adapte une poire à aspirer. Dans le ballon on place le liquide conservateur. L'appareil est stérilisé entièrement à l'autoclave. Au moment de l'emploi on renverse le petit ballon contenant l'huile de paraffine de façon que l'aiguille plonge dans cette huile. On aspire alors avec la poire pour que l'huile de paraffine lubrifie l'intérieur de l'aiguille et la paroi interne du tube de caoutchouc et du tube de verre. Quand ce résultat est obtenu, on retire l'aiguille du ballon et aussitôt on la plonge dans la

veine du donneur. Le sang arrive rapidement dans le flacon et tombe directement dans le liquide conservateur.

Son arrivée est facilitée par quelques aspirations de la poire. Aussitôt qu'on a recueilli la quantité de sang jugée nécessaire, on procède à la clôture des deux canalisations qui traversent le bouchon, soit en fermant à la lampe les tubes de verre, soit en plaçant deux pinces à forcipressure sur ces canalisations.

Aussitôt le ballon est transporté à la glacière à 4°C.

Composition des liquides conservateurs :

a) Sérum I. H. T.

Citrate de soude tribasique (5 1/2 H ² O).	5 gr. 200
Chlorure de sodium.....	7 gr.
Chlorure de potassium.....	0 gr. 200
Sulfate de magnésie anhydre.....	0 gr. 040
Eau bi-distillée jusqu'à	1 litre

b) Sérum Ringer — hépariné à 1/4000.

Nous avons employé des produits parfaitement purs ; ces produits devant être utilisés anhydres, ont été séchés au four électrique. Les pesées sont justes à 1/10 mgr. La verrerie était nettoyée au mélange sulfo-chromique.

Les caoutchoucs étaient d'abord rincés dans une solution faible de soude, puis lavés à l'eau courante pendant 24 heures.

Technique de numération et d'étude des plaquettes du sang conservé

Toutes les demi-heures les flacons contenant le sang sont extraits de la glacière, soigneusement et longuement agités, ouverts au-dessus de la flamme Bunsen. On y plonge une pipette de pyrex conservée dans du sérum I. H. T. Le sang recueilli est aussitôt étalé sur des lames parfaitement propres et colorées par le procédé ordinaire May-Grünwald-Giemsa. Toutes les six heures le prélèvement est utilisé également pour faire une numération des globules blancs avec le liquide de Latzarus et de la cellule de Malassez. Les numérations des plaquettes sont faites en les rapportant aux globules blancs selon la technique exposée plus haut.

CHAPITRE III

RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX

1^o Avec le sérum I.H.T. nous avons obtenu les résultats suivants :

a) Chiffre des plaquettes du sang que nous avons prélevé :

Le 14 février 1935.....	250.000 à 8 heures
Le 14.2.35 on en constate ...	200.000 à 8 h. 30
15.2.35	50.000
16.2.35	30.000
17.2.35	22.000
18.2.35	16.000
19.2.35	9.000
20.2.35	7.000
21.2.35	6.000
22.2.35	5.000

b) Nombre des globules blancs :

Le 14.2.35	5.600
15.2.35	2.800
16.2.35	2.200
17.2.35	2.000
18.2.35	1.700
19.2.35	1.300
20.2.35	800
21.2.35	700
22.2.35	600

2^o Avec le Ringer-hépariné, nous avons constaté quant aux plaquettes :

a) Le 14.2.35	250.000 à 8 heures
14.2.35	200.000 à 8 h. 30
15.2.35	50.000
16.2.35	14.000
17.2.35	12.000
18.2.35	9.000
19.2.35	6.000
20.2.35	2.000
21.2.35	2.000
22.2.35	1.500

b) Nombre des globules blancs :

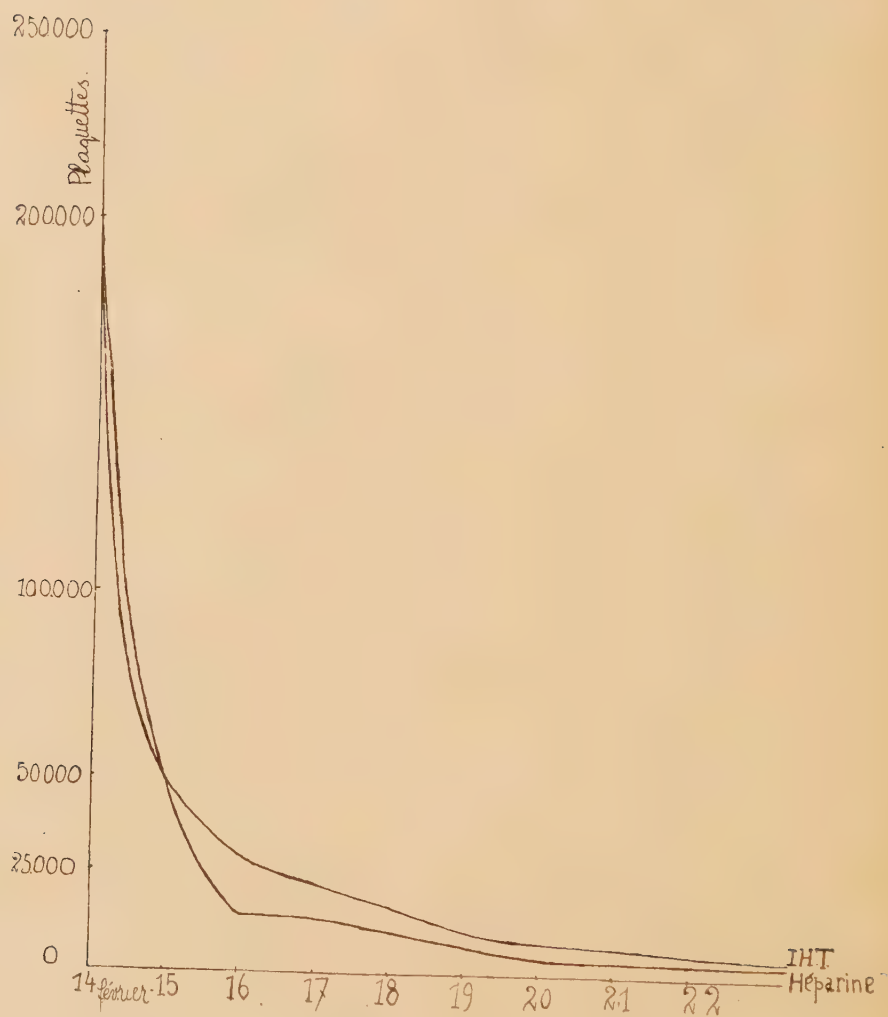
Le 14.2.35	5.600
15.2.35	4.100
16.2.35	1.500
17.2.35	1.200
18.2.35	1.000
19.2.35	700
20.2.35	400
21.2.35	200
22.2.35	200

Les résultats apparaissent d'une façon plus imagée si on les inscrit sur un graphique.

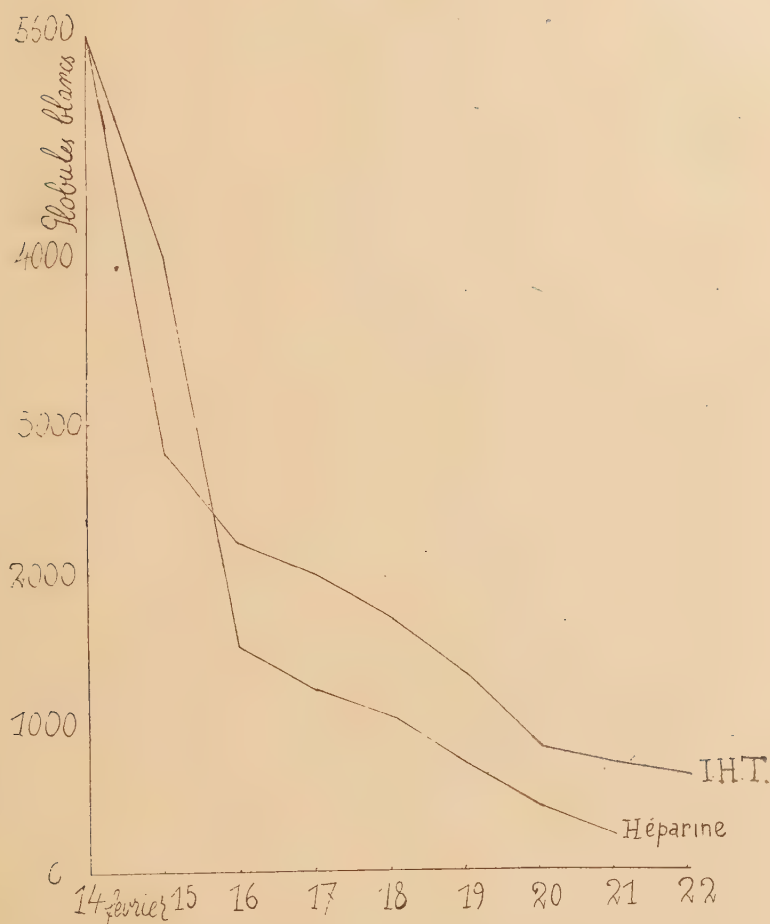
La considération de ces courbes appelle les réflexions suivantes :

La chute du nombre des plaquettes est extrêmement rapide et en 24 heures le taux de celles-ci tombe au cinquième du taux initial (250.000).

A partir de ce moment la chute se ralentit d'une façon considérable et la courbe devient asymptote à



Graphique du comportement du nombre des plaquettes dans le sang humain conservé pendant huit jours.



Graphique du comportement du nombre des globules blancs dans le sang humain conservé pendant huit jours.

la ligne du temps. Mais cette chute est suffisante au bout de 24 heures pour que le taux des plaquettes s'abaisse au-dessous du chiffre critique, au-dessous duquel, d'après les auteurs, doit commencer la diathèse hémorragique.

Il semble que ce seul fait est une éloquence qui se passe de commentaires. Une altération aussi rapide d'un facteur évident, tel que le nombre, permet de préjuger sur ce qui doit se passer dans le domaine de la physiologie d'un organisme aussi délicat que la plaquette sanguine.

Nous savons que le sang possède bien d'autres propriétés que celles qui expriment d'une façon figurée globules et globulins ; on peut penser qu'elles ne se conservent pas mieux que ceux-ci. Il paraît logique de croire qu'au bout de 24-48 heures le sang conservé ne doit plus avoir que de très vagues rapports avec le sang frais, malgré le luxe de précautions dont on s'entoure pour le recueillir et le garder. Nous nous en voudrions d'affaiblir par un discours plus long, la belle éloquence des chiffres et des courbes que nous avons obtenus dans notre travail.

CONCLUSIONS

I. — L'utilisation du sang conservé en vue de la transfusion sanguine, présente peut-être des avantages d'ordre pratique (facilité de transport en grande quantité) ; encore faut-il que ces avantages ne soient pas compensés par une dépréciation des propriétés biologiques de ce sang.

II. — L'étude de la valeur du sang conservé est difficilement réalisable par la seule clinique.

En effet, les circonstances dans lesquelles on fait appel à la transfusion, présentent trop de différences selon les cas, pour qu'on puisse s'en tenir à la seule impression clinique.

N'est-ce point en se basant sur ce seul critérium, que l'on a pu successivement mettre en balance avec le sang, les liquides les plus divers (sérum gommé de Bayliss, sérum citraté, etc.) ?

III. — L'étude objective des éléments figurés du sang, permet au contraire de se baser sur des éléments comparables.

C'est ainsi que les auteurs russes, ont pu montrer la rapide diminution des éléments blancs et également des propriétés biologiques de ces derniers (pouvoir phagocytaire notamment).

IV. — Dans cette étude nous nous sommes attachés à déterminer le comportement des plaquettes (troisième élément figuré du sang de Hayem).

V. — Ces dernières, recueillies dans des conditions d'asepsie parfaite subissent, du fait de la conservation du sang, des altérations quantitatives très importantes, qui nous semblent corrélatives d'altérations qualitatives, au moins aussi marquées.

Nous avons constaté ainsi que :

A) Le nombre des plaquettes, du seul fait du prélèvement, tombe en trente minutes, de 250.000 à 200.000.

B) Au bout de 24 heures, ce nombre est abaissé à 50.000.

C) A partir du deuxième jour, leur nombre décroît très peu et au bout d'une semaine s'établit aux environs de 10.000.

D) La courbe de décroissance des plaquettes, est représentée par une branche d'hyperbole équilatère.

VI. — En résumé, l'étude de la courbe montre que, en 24 à 48 heures, le taux des hémotoblastes du sang est pratiquement inexistant ; ce qui de ce point de vue déjà, fait émettre les plus grandes réserves sur la valeur du sang conservé.

VU : *le Doyen,*

ROUSSY

VU : *le Président,*

A. GOSSET

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

CHARLÉTY.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

1. ACHARD et AYNAUD, 1907. — Sur l'observation directe des hémato blastes dans le plasma sanguin (*C. R. Soc. Biol.*, LXIII, 593-595).
2. ACHARD et AYNAUD, 1908 a. — Forme et mouvements des globulins du sang (*Ibid.*, LXIV, 341-242).
3. ACHARD et AYNAUD, 1908 c. — Action des anticoagulants sur les globulins (*Ibid.*, LXIV, 898-900).
4. ACHARD et AYNAUD, 1908 d. — Réduction du bleu de méthylène par les globulins (*Ibid.*, LXV, 57-58).
5. ACHARD et AYNAUD, 1908 f. — Coloration vitale des globulins par le rouge neutre (*Ibid.*, LXV, 442-443).
6. ACHARD et AYNAUD, 1908 g. — La survie des globulins hors de l'organisme (*Ibid.*, LXV, 459-460).
7. ARTHUS et CHAPIRO, 1908. — Études sur la rétraction du caillot sanguin (*Arch. intern. de Physiol.*, VI, 298-305).
8. AYNAUD, 1910 b. — Méthode de numération des globulins chez l'homme (*C. R. Soc. Biol.*, LXVIII, 1062-1064).
9. AYNAUD, 1911 c. — Étude clinique et expérimentale sur les variations numériques des globulins (*Arch. des Mal. du cœur, des vaisseaux et du sang*, IV, 358-403).
10. AYNAUD 1913 a. — Action du sérum antiglobulin in vivo (*C. R. Soc. Biol.*, LXXIV, 193-195).
11. AYNAUD, 1914. — Sur la composition chimique des globulins (*C. R. Soc. Biol.*, LXXVI, 480-481).
12. BALACHAWSKY et GUINSBOURG. — Le Sang, n° 6, 1934.
13. BIZZOZERO, 1882 a. — Sur un nouvel élément morphologique du sang chez les mammifères et sur son importance dans la thrombose et dans la coagulation (*Arch. it. de Biol.*, I, 1-4).
14. BLACHER. — Le Sang, n° 2, 1935.

15. BORDET et DELANGE, 1911. — L'intervention des plaquettes sanguines dans la coagulation du sang (*Bull. Acad. Roy. de Méd. de Belgique*, XXV, 570-580).
16. CRAMER et PRINGLE, 1913. — On the coagulation of Blood (*Quarterly Journ. of exper. Physiol.* VI, 1-11).
17. DUCCESCHI, 1915. — Plaquettes et coagulation du sang (*Arch. it. Biol.*, LXIV, 341-353).
18. DREYFUS (André). — (*C. R. Soc. d'Hématologie*, 5 avril 1935).
19. DEGKWITZ. — Abderhalden Arbeits methoden. Leipzig.
20. FONIO 1923. — (*Schweiz. med. Wochenschr.*).
21. FRANK, 1915. — Die essentielle Thrombopenie (konstitutionnelle Purpura. Pseudo-Hämophilie) (Berlin, *Klin. Wochenschr.*, L. II, 454-458 et 490-494).
22. FRANK, 1925. — Die hämorrhagischen Diathesen (*Handb. der Krankh. des Blutes u. der blutbildenden Organe*, Springer, éd., Berlin, II, 691, 289-472).
23. GOVAERTS 1924. — Données actuelles sur l'origine et le rôle des plaquettes sanguines (*Ann. et Bull. de la Soc. Roy. des Sc. méd. et nat. de Bruxelles*, LXXVIII, 16-34).
24. HAYEM 1878 a. — Sur la formation de la fibrine du sang étudiée au microscope (*C. R. Académie des Sc. Paris*, CXXXVI, 58-61).
25. HAYEM 1882, a. — Nouvelles recherches sur la coagulation du sang. Du rôle des éléments figurés dans la coagulation (*Union médicale*, 2^e semestre).
26. HAYEM 1882 b. — De la crise hématique dans les mal. aiguës à défervescence brusque (*C. R. Ac. des Sc. Paris*, XCIV, 200-202).
27. HAYEM 1882 c. — Sur le mécanisme de l'arrêt des hémorragies (*C. R. Ac. des Sc.*, XCV, 18-24).
28. HAYEM, 1883. — Expériences démontrant que les concrétions sanguines formées au niveau d'un point lésé des vaisseaux débutent par un dépôt d'hématoblastes. (*Ibid.*, XCVI, 653-655).
29. HAYEM, 1923. — L'hématoblaste, troisième élément figuré du sang (*Presses Universitaires de France*, Paris).
30. HOWELL, 1911. — The role of antithrombin and thrombo-

- plastin (thromboplastic substance) in the coagulation of blood (*Amer. Journ. of Physiol.*, XXIX, 197-209).
31. LAMBLING, 1921. — Précis de Biochimie (Masson, éd.).
32. JUDINE. — La transfusion du sang de cadavre à l'homme (Masson, éd., Paris).
33. LE SOURD et PAGNIEZ, 1906 *a.* — Un procédé d'isolement à l'état de pureté des hématoblastes du sang. (*C. R. Acad. des Sciences Paris*, CXLII, 1562).
33. LE SOURD et PAGNIEZ, 1906 *b.* — Du rôle des hématoblastes dans la rétraction du caillot. Recherches expérimentales (*C. R. Soc. Biol.*, LXI, 109-111).
34. LE SOURD et PAGNIEZ, 1906 *c.* — L'irrétectibilité du caillot et sa production expérimentale par action directe sur les hématoblastes (*C. R. Soc. Biol.*, LXI, 562-563).
35. LE SOURD et PAGNIEZ, 1907 *a.* — Rech. expériment. sur le rôle des hématobl. dans la coagulation (*Ibid.*, LXII, 934-936).
36. LE SOURD et PAGNIEZ, 1907 *b.* — La rétraction du caillot sanguin et les hématobl. (*Journ. de Phys. et de Path. gén.*, IX, 579-592).
37. LE SOURD et PAGNIEZ, 1907 *c.* — Contribution à la question de l'origine des hématoblastes (*C. R. Soc. Biol.*, LXXIII, 561-563).
38. LE SOURD et PAGNIEZ, 1908 *a.* — Nouvelles rech. sur le rôle des hématobl. ou plaquettes sang. dans la coagulation (*Ibid.*, LXIV, 931-932).
39. LE SOURD et PAGNIEZ, 1913 *a.* La rétraction du caillot sanguin et les plaquettes (*Journ. de Phys. et de Path. gén.*, XV, 812-824).
40. LE SOURD et PAGNIEZ, 1913 *b.* — Recherches sur l'action hypotensive d'extraits de plaquettes (*C. R. Soc. Biol.*, LXXV, 214).
41. MOUZON, 1921. — Les plaquettes du sang humain (Thèse, Paris).
42. NÆGELI. — Blutkrankheiten u. Blutdiagnostik, (5. Auflage, Berlin, 1931).
43. NOLF, 1908 *a.* — Contribution à l'étude de la coagulation du sang (*Arch. Int. de Phys.*, VI, t. LXXII).

44. NOLF, 1913 b. — La coagulation du sang (*Traité du sang*, Masson, éd., Paris).
45. ROSKÁM. — Phys. normale et pathol. du globulin (*Les Presses Univ de France*, Paris 1927).
46. SAHLI, 1894. — Ueber den Einfluss des intravenös injizierten Blutegelextraktes auf die Thrombenbildung (*Zentralblatt f. innere Med.*, XV).
47. WEILL (P. E.) 1913. — Le temps de saignement expérimental (*C. R. Soc. Biol.*, LXXIV, 590-592).
48. WEILL, (P. E.) 1923. — Généralité sur la transfusion sanguine médicale. Ses indications dans les affections du sang (*Rapport au XXXII^e Congrès de Chir.*, Alcan, éd., Paris, 189-218).
49. WEILL (P. E.), BOCAGE et COSTE 1922 a. — États hémorragipares, hématoblastes et temps de saignement (*C. R. Soc. Biol.*, LXXX, VI, 23-26).

Saint-Amand (Cher). — Imprimerie R. BUSSIÈRE. — 23-3-1935.

